

日本農芸化学会北海道支部 北海道農芸化学協会

シンポジウム及び合同学術講演会

講 演 要 旨

シンポジウム：

Glycosidase による糖の分解および転移

昭和47年12月8日（金）午後1時より

研究発表会：

昭和47年12月9日（土）

午前の部 午前9時～12時

午後の部 午後1時～2時30分

日本農芸化学会北海道支部総会：

昭和47年12月9日（土）午後12時40分より

特別講演会：

昭和47年12月9日（土）午後3時～5時

環境保全における活性炭の利用

北海道大学農学部教授 江口良友氏

菌類代謝産物の合成研究

北海道大学農学部助教授 市原耿民氏

懇親会：

昭和47年12月9日（土）午後6時より

会費 1,000円（学生 500円）

場所 石狩会館（道庁北側）

北海道大学農学部農芸化学科第2講堂

シンポジウム

1. 高等植物の酵素によるシュクロースからのフラクト

オリゴ糖の転移合成

北大農化 ○塩見 徳夫, 山田 次良
伊沢 正夫

高等植物の貯蔵根中にはイヌリンのようなフラクタン類を貯蔵するものがある。これらの組織たとえばキクイモの塊茎、アスパラガスの貯蔵根などには、高分子のフラクタンのほかに、主としてフラクトースからなるオリゴ糖が存在する。タマネギでは高分子のフラクタンの含量は少なく主としてシュクロースを貯蔵しているが、この場合にも一連のフラクトオリゴ糖が存在している。このようにフラクトオリゴ糖はキク科、ユリ科などの植物の貯蔵組織に広く分布することから、フラクタンの合成との関係も考えられ、その合成機作は興味深い問題である。

グリコシダーゼは一般にグリコシド結合の加水分解を行なうほかに、糖を転移する作用をもつものが多い。シュクロースから高等植物の β -フラクトフラノシダーゼ（インペルターゼ）の転移作用によってフラクトオリゴ糖が合成されることも認められているが、それらとは別に、事実上シュクロースを加水分解する作用を示さない転移酵素が見出された。

酵素の精製の一例を示せば、タマネギの底盤部をミキサーで砕碎し、布で搾り、遠心分離して抽出液を得る。硫酸安塩析後沈殿を溶かして 0.01 M-Na-phosphate buffer (pH 7.0) に対して透析する。この液を磷酸カルシウムゲルの少量を用いて処理すると、はじめインペルターゼが磷酸カルシウムゲルに吸着されるので、最適量を検査しながら磷酸カルシウムゲルを加えてインペルターゼを除き、溶液を濃縮後 DEAE-カラムクロマトグラフィーを行なって、事実上加水分解活性を示さない転移酵素標品を得た。

この酵素のシュクロースに対する作用の最適 pH は 4.5 付近にあり、pH 4.5におけるKm値は約 0.33 M、また $HgCl_2$ (10^{-4} M), $AgNO_3$ (10^{-3} M) によりそれぞれ 80.5%, 72.5% の阻害を受け、熱に対しては 60°C で 10 分間保つと 85% の失活を示した。

シュクロースからの転移生成物は主として 1-ケストースとネオケストースであり、その他に 4~6 糖類が検出された。これらの三糖類は、タマネギ中に存在する三糖類と一致し、このことは、この酵素がタマネギ中にシュクロースに作用し、オリゴ糖を生成している可能性を示

している。

タマネギ中にはこの酵素のほかに中性インペルターゼ（最適 pH 7）が存在するが、この中性インペルターゼは転移作用を示さない。また、多くの高等植物組織でみられるような酸性インペルターゼはタマネギ底盤部抽出液ではほとんど認められなかった。

タマネギの場合と同様の転移酵素がアスパラガス根、タンボボ根などから見出され、この種の酵素はかなり広く分布して、高等植物組織中のフラクトオリゴ糖の合成を行なっているものと推定される。

2. 甜菜主根における細胞壁結合型サッカーラーゼの性質と生理的機能

帯畜大農化 ○増田 宏志、岡崎 重明
鈴木 政安、菅原 四郎

われわれは植物組織における細胞壁結合型酵素の性質と生理的機能を研究する目的に、材料として甜菜主根のサッカーラーゼを選び、甜菜主根における蔗糖合成、蓄積と分解に関する関連性を追求しようとした。

甜菜主根におけるサッカーラーゼ活性は生育初期には活性は高いが、主根が肥大し、蔗糖蓄積が大きくなる時期には酵素活性は急激に減少し、非常に微弱になる。成熟主根では酵素活性は微弱であるが、スライス状にし、エイジングすると酵素活性は著しく増加する現象が見られ、その大部分が細胞壁結合型サッカーラーゼであった。今回はこの結合型サッカーラーゼの可溶化とその性質を中心に、生育初期；すなわち、発芽期の茎、根の結合型サッカーラーゼとの共通点を比較したので報告する。

まず、主根スライスのエイジング中に発現する結合型サッカーラーゼは食塩、その他の無機塩ではほぼ完全に可溶化され、食塩では 0.3 M 以上で行なわれる。同時にクエン酸緩衝液 pH 7.0 でも可溶化する。発芽期結合型酵素は約 30% 食塩溶液で可溶化され、さらにクエン酸緩衝液 pH 7.0 でも可溶化される。次に、前者と後者の両食塩可溶結合型酵素の性質については、両者とも、水に対して透析すると白濁する。遠心分離すると、沈殿区分に酵素活性が移行する。このことは水に対し不溶性であることを意味する。その際、前者は酵素活性が低下し、さらに食塩処理すると可溶化し、活性が回復する。しかし pH に対する影響では、前者は pH 3.0 では不溶化し、酵素活性は著しく低下し、さらに、食塩処理すると活性が回復する。pH 5.0 以上では可溶性であった。それに反

し、後者は pH 3.0 で可溶性であるが、pH 7.0 では不溶性であり酵素活性は低下する。これらの現象をセファデックス G 100 の知見では両者とも、水不溶化では V₀ に活性区分があり、食塩処理ではそれよりも分子量的には小さいことがわかった。以上のことと総合すると、両者とも性質の若干の違いはあるが、同じグロブリン性蛋白であると思われる。さらに、両酵素の pH、温度に対する影響および Km 値はほぼ一致していた。エイジング中に発現する結合型酵素の細胞壁との再結合条件は食塩で可溶化した酵素を細胞壁と共存させ食塩濃度を低下させると細胞壁と再結合し、pH 7.0 で最大となる。また、発芽期結合型酵素の細胞壁との再結合の条件も検討した。

以上、成熟主根スライスのエイジング中に発現する結合型酵素と発芽期の結合型酵素との性質が共通していることについて若干の考察を試みた。

3. トマト果実の細胞壁画分に局在する酵素について —ベクチンエステラーゼおよびβ-フラクトフランシダーゼを中心として—

千葉大農化 ○中川 弘毅、小倉 長雄
竹花秀太郎

植物細胞の細胞壁 (CW) は、細胞の生命活動に直接関与せず、いわば死んだ部分であると理解されていたが、最近、CWにも核酸や酵素蛋白質が含まれており、代謝回転の能力をもつ“生きた”細胞構成成分であることの証拠を与える知見が得られている。トマト果実の CW 画分に認められる酵素活性レベルは追熟の進行とともに変動する。追熟の進行につれて、活性レベルの増加する酵素として、ベクチンエステラーゼ(PE), β-フラクトフランシダーゼ (β-FF) などがあり、減少する酵素として酸性ホスファターゼ、バーオキシダーゼなどがある。精製 PE は分子量約 3 万の電気的に比較的不活性な蛋白であり、β-FF は DEAE Sephadex A-50 カラムクロマトグラフィーにより 2 種類 (E. L.) の糖蛋白に分別される。

PE, β-FF の追熟の進行とともに活性増大は、おそらく *de novo* 合成に由来するものであろう。

そうであるなら、CW 側にも新規に合成された酵素の存在を可能にする場が形成される必要がある。PE と各ステイジから調製された CW との関係から、追熟が進行するにつれ、CW と PE との親和性および CW の結合容量が高まることが訳る。

また CW 側には、ある一つの性質をもった結合部位しかないのか、あるいは二つ以上の性質の異なる結合部位が存在するのかという問題を精製 PE, β-FF, および各ステイジから調製された CW を用いて検討した結果、

CW には少なくとも 3 つの性質を異にした結合部位が存在することが訳る。

酵素が CW と結合していることが、遊離の状態とは異なる性質をもたらすか否かを β-FF と CW の系を用いて検討すると、結合型 β-FF は、耐熱性を増し、アレニウスのプロットに屈曲点を有することが認められる。

β-FF と CW との結合の性質を類推するために、β-FF-CM セルロース系、β-FF-ポリアクリルアミド系の示すキネティクスを β-FF-CW 系のものと比較してみると、β-FF と CW との結合は単純なイオン的結合ではなく、構造的な要素も関係している複雑な結合状態をとることが推測される。

残されている問題として、追熟のステイジを通じて、同じ性質の酵素が合成されているのかどうか、またその分解部位は CW 中にあるのかといったことが考えられる。

総合討論

休憩

4. 植物起源の α-Glucosidase

北大農化 高橋 布往

α-Glucosidase (EC. 3. 2. 1. 20) は自然界に広く存在し、酵素起源により基質特異性は異なることが知られている。植物起源の α-glucosidase に関しては精製された標品が少なく、その性質も知られてない面が多い。ここでは植物起源として、米より得た超遠心的およびディスク電気泳動的に单一な α-glucosidase を中心に他起源のものと比較しながら述べる。

動物や微生物の α-glucosidase はその起源により、最適 pH は 4~5 あるいは 6~7 付近にあるが、植物起源のものは大部分 4~5 にあり、中性付近に最適 pH を持つものは知られていない。

基質特異性において、植物の α-glucosidase が maltotetraose 糖を加水分解する速度は maltose > maltotriose > maltotetraose の順で、gluco 二糖類に対しては maltose > nigerose > kojibiose > isomaltose であり、sucrose, turanose, phenyl- および methyl-α-glucoside にはほとんど作用しない。これは *Schizosaccharomyces pombe* などの α-glucosidase と類似している。しかし *Saccharomyces cerevisiae* などの phenyl-α-glucoside > sucrose > turanose > maltose > isomaltose とは異なっている。

米、トウモロコシおよび蕎麦のディスク電気泳動的に单一な α-glucosidase は糖転移作用をも触媒し、多糖類

にも作用する。加水分解速度は maltose > starch であるが、starch, amylopectin および β -limit dextrin を 70 % 以上分解する。微生物の glucoamylase は starch を 70 % 以上加水分解するが、水解速度は starch > maltose であり、糖転移作用は触媒しないとされている。

米の α -glucosidase の starch 対する活性は一価二価を問わず陽イオンの添加によって増加するが、maltose 対する活性は変化しない。 ^{14}C -maltose および ^{14}C -starch を用いた混合基質実験より、maltose と starch は別々の site で加水分解されるものと考えられる。ゲルfiltration および SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動より、分子量は約 10 万と推定され subunit は無いと考えられる。

5. α -glucosidase の糖転移作用

北大農化 千葉 誠哉

少糖類を調製する方法は、主として(1)天然遊離糖の分離、(2)多糖類、配糖体の分解、(3)酵素合成、(4)化学合成などに大別することができる。これらのうち酵素の糖転移作用を利用した(3)の方法は特徴ある一つの有力な方法であり、これまでにも多くの研究者によって少糖類の合成に応用してきたが、今後も新しい少糖類の合成に一つの可能性を示唆するものと考えられる。私達の研究室では從来麦酒酵母および蕎麦の α -glucosidase による糖転移生成物として、約 10 種におよぶ新少糖類を明らかにしてきたが、今までに得られた少糖類、並びにこれらの酵素の糖転移作用に関する知見について紹介したい。

麦酒酵母 α -glucosidase は phenyl- α -glucoside のような aryl- α -glucoside を最もよく加水分解する典型的な α -glucosidase であるが、D-mannose, D-fructose, L-sorbose, D-xylose を受容体とした場合比較的顕著な糖転移作用を示し、これらの単糖を構成成分とするヘテロ少糖類を生成する。上述の各单糖を受容体とした場合の主生成物はそれぞれ 3- α -glucosylmannose, 4- α -glucosylfructose, 1- α -glucosylsorbose, 3- α -glucosylxylose である。これらの受容体となり得る单糖はそのコンフォーメーションの一部にある種の共通性が見られ、そのことが本酵素の糖転移反応における受容体特異性になんらかの意味をもつものと推測された。

蕎麦 α -glucosidase は α -glucosidase 活性とともに glucoamylase 活性をもつ酵素であるが、maltose のみならず澱粉を基質とした場合にも比較的顕著な糖転移作用を示す。その転移生成糖は nigerose および kojibiose が最も多く、isomaltose や maltose の生成は少ない。すなわち α -1,2 および α -1,3 結合生成酵素である。さらにこれらの二糖類が受容体となり生成されるグルコ三

糖類は 10 数種におよぶが、現在までに構造の確認されたものは 2- α -nigeroseylglucose, 3- α -nigeroseylglucose, 2,4-di-glucosylglucose, 3- α -maltoseylglucose, 4- α -nigeroseylglucose, 2- α -isomaltoseylglucose, maltotriose などである。

α -D-glucopyranose から構成される還元三糖類は、理論上 22 種の存在が可能であるが、これらのうち未確認糖の大部分は構造中に α -1,2 結合を含むものである。特に非還元末端側に α -1,2 結合をもった三糖類で分離確認されたものは少ない。このようなグルコ三糖類の検索を行なったが、これまでのところ本酵素の転移生成物としては得られていない。このことからグルコ二糖類が受容体となった場合、非還元末端グルコースと α -1,2 結合を形成し難いのは受容体の構造に基づく立体障害、すなわち隣接した水酸基が同時に結合を形成し得ないものと推測された。

6. ビタミン類の糖誘導体に関する研究

岡山大学農業生物研究所 鈴木 幸雄

ビタミンの多くがりん酸あるいはスクレオチドなどと結合した形で補酵素として作用していることは周知のことであるが、このほかに近年ビタミンの糖誘導体の生成能が動植物および微生物に認められている。本研究ではまずリボフラビン (B_2) 糖誘導体の生成能を広く微生物、植物、市販グリコシダーゼなどで認めてその普遍性を立証し、ついで糖誘導体の生成が既知のグリコシダーゼ自身の有する転移作用によることをはじめて明らかにした。さらにグリコシダーゼは B_2 ばかりでなく、他のビタミン類の糖誘導体をも合成しうることを見いだした。まず B_2 糖誘導体の生成反応の普遍性を立証した。すなわち、デキストラン産生乳酸菌ではスクロースと B_2 から 5'-D-riboflavin- α -D-glucopyranoside (B_2 -5'- α -gl) を生じ、ついで B_2 -5'- α -gl へのスクロースからのグルコシル基の転移が起こり、さらに糖転移が反復して起こって添加した B_2 の大部分が B_2 多糖類 (B_2 と 1-6 型多糖類の結合した化合物) に転換される一連の新反応形式を見いだした。 B_2 産生菌 *Ashbya gossypii* や *Eremothecium ashbyii* では培養時マルトース培地で B_2 とともに B_2 -5'- α -gl の生成を指摘できた。米、トウモロコシ、キビの各種実やバレイショでは多種の B_2 - α (β)-糖誘導体の生成能を認め、これらを結晶化して理化学的性質や微生物学的活性の相違を明らかにした。エムルシンや酵母ラクターゼでは B_2 -5'- β -gl や B_2 -5'- β -ga (ガラクトシド) を合成する作用のあることを見いだし、これらの単離、結晶化を行なった。ついで B_2 糖誘導体の生成機作を検討し、市販の大腸菌結晶 β -ガラクトシダーゼ

が B_2 -5'- β -ga や β -ガラクトシル糖アルコールを生ずることを、および *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus*, 豚肝臓からそれぞれ純化あるいは結晶化した B_2 を受容体とする糖転移反応を触媒する酵素が、いずれも B_2 -5'- α -gl 生成活性と α -グルコシダーゼ活性とを併有し、両活性が最適 pH, 最適温度、耐熱性などでよく一致することなどを明らかにして、 B_2 糖誘導体の生成は既知のグリコシダーゼ自体の有する転移作用によること

を立証した。さらに上記の結晶化あるいは純化したグリコシダーゼは B_2 ばかりでなく、他のビタミン類への糖転移作用をも有することを見いだし、多種の新糖誘導体（アスコルビン酸- α -gl, ピリドキシングリコシド、グリコシルヌクレオシド、ビタミンP グルコシドなど）を合成した。

総合討論

一般講演

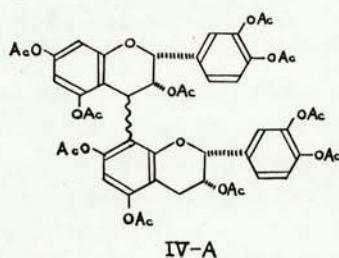
講演時間 13分 討論 2分

1. 酸酵カカオ種子中のポリフェノール成分

北大農化 ○吉村 孝一, 坂村 貞雄

酸酵カカオ種子中に多く存在しているポリフェノール成分の研究中、4種の化合物を単離同定したので報告する。また、われわれはポリフェノール化合物の酵素によるメチル化反応について検討した。

(i) 脱脂した酸酵カカオ種子粉末を80% MeOHで抽出し、ついで、その濃縮水溶液を $CHCl_3$ 、酢エチで順次抽出した。酢エチ抽出物をシリカゲルカラムにより分画し、4個のフェノール試薬陽性物質 (I, III, IV, VI)を得た。I, VIはB.P.B.試薬にも陽性でフェノール有機酸である。HClで加熱すると Cyanidin を与えるIVは、完全アセチル化物として単離した (IV-A)。機器分析により、Protocatechuic acid (I), (\rightarrow) Epicatechin (III), Decaacetyl procyanidin (IV-A), Vanillic acid (VI)と同定した。



(ii) (\rightarrow) Epicatechin (Epi) or Protocatechuic acid (PCA)に Mg^{2+} 、活性メチオニンを加え、これにネズミ肝臓より得た酵素液を pH 7.4, 37°C で作用させ、メチル化物を TLC, PC で検出した。その結果、PCA からは Vanillic acid を、Epi からはメチル化物と思われるスポットを生じた。

2. 光酸化によるピシジ酸ジメチルエステルから O, O'-ジメチルフキ酸ジメチルエステルの生成

北大農化 縫部 花子, ○吉原照彦
坂村 貞雄

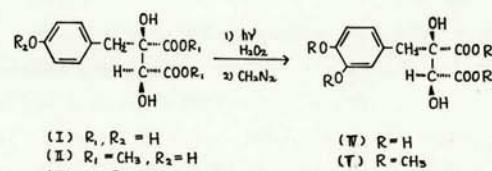
〔目的〕

われわれはすでにピシジ酸 (I) とフキ酸 (IV) が同じ立体配置をしていることをあきらかにした。今回 I のメチルエステル (II) を用い、光酸化的に IV のメチル誘導体 (V) に導き両者の立体配置の同一性を確認しようとした。

〔方法および結果〕

IIを、 H_2O_2 を含む水溶液中で光酸化することによって O-hydroxylation 行ない、次にシアゾメタンでメチル化して酸化生成物を得た。この化合物を V と比較したところ、mp, TLC, 元素分析, MS, NMR, IR が一致し、また旋光度も同様であった。

のことによって I と IV の立体配置の同一性を再確認した。



3. ラジノクロバー (*Triforeum repens* L. var. *giganteum*) のアミノ酸組成 (I) 酸性区分の検索

北大農化 *酪農大 ○葛西 隆則 *上田真理子
坂村 貞雄 *酒田 和彦

ラジノクロバー種子 10 kg の 70% エタノール抽出液をイオン交換樹脂 (Amberlite IR-120 (H^+), Dowex 1×4 (AcO^-)) 处理して得た酸性区分を Dowex 1×4 (AcO^-) にかけ酢酸濃度を段階的に上げて溶出分画して 4 種の化合物 (CAU-1, 2, 3, 4) を得た。各化合物をセルロースカラムにより精製し、元素分析、加水分解、各種スペクトルよりそれらの構造を次のように決定した:
CAU-1 (520 mg); γ -Glutamylphenylalanine, CAU-2 (430 mg); γ -Glutamyltyrosine, CAU-3 (68 mg); γ -Glutamylaspartic acid, CAU-4 (微量); α -aminoacrylic acid.

4. 蕎麦種子の発芽期の少糖類

北大農化 ○松沢 幸一, 高橋 布往
下村 得治

植物種子の発芽期に存在する遊離糖はその糖分解酵素作用との関連性からも興味深いものと思われる。蕎麦種子の発芽に伴なう単糖及び主な二糖類の変化については既に報告されている。今回、演者らは発芽期の二糖及び三糖類に注目して検討を加えたところ、ケトースを含む三糖類と推定される三種の糖 (S-I, S-II, S-III と略称する) の存在を認めた。その中から S-I を単離し、その構造及び諸性質を調べたので報告する。発芽 3 日目の種子の遊離糖を 80% エタノールで加熱抽出し、除蛋白、脱塩処理後、Sephadex G-15 でゲルfiltration を行ない二糖及び三糖区分を集め、二種の展開溶媒を用いてペーパークロマトグラフィーを行ない S-I を単離した。S-I を稀酸で完全加水分解すると glucose と fructose が認められその構成比は 2:1 である。又、部分水解では maltose sucrose も認められた。更に各種の呈色反応やペーパークロマトグラフィーの結果、S-I を O- α -D-glucosyl-(1→4)-O- α -D-glucosyl-(1→2)- β -D-fructoside = Erllose と推定した。この糖は非還元性、吸湿性であり、比旋光度は $[\alpha]_D^{20} = +71.4^\circ$ ($C=2.8$ 水) である。アセテートは m.p. 70.0~71.5°C, $[\alpha]_D^{15} = +86.0^\circ$ ($C=2.25$ クロロホルム) である。

5. Allium 属植物 (主にギョウジャニンニク) の糖類について

北大農化 ○竹市 守, 西村 弘行
水谷 純也
北教大 中村 秀子

目的: Allium 属植物は、古くから食用又は薬用として用いられているが、その糖類に関する研究はあまり多くない。演者らは、ギョウジャニンニク (*A. victorialis* L.) の成分研究の一環として、糖類、特にオリゴ糖の検索を行ない、さらに他の Allium 属植物についてもその量的比較をしたので報告する。

方法および結果: ギョウジャニンニク (静内産) 2.8kg から常法により糖類を抽出し、活性炭-セライトカラム、及び PPC 等により分画し各画分について、PPC の Rf 値及び TFA誘導体の GLC (カラム液相: QF-I, OV-17, SE-52) の保持時間、さらに各種発色試薬によって各成分を確認した。その結果、興味あるオリゴ糖として neo-kestose, 1-kestose を、標品との比較により同定した。さらに遊離糖について、他の Allium 属植物 (タマネギ、ニンニク、ニラ、長ネギ) との比較を行なったところ、主に二糖類 (Sucrose) 及び三糖類 (neo-kestose, 1-kestose) の量的関係に、興味ある差違が認められた。

6. ラジノクロバー (*Trifoleum repens* L. var. *giganteum*) 種子のフラボノイド色素について

酪農大 *北大農化 ○上田真理子 *葛西 隆則
酒田 和彦 *坂村 貞雄

ラジノクロバーは種子自体が黄色を呈し、そのアルコール抽出物は多量の黄色色素を含んでいたため、フラボノールの分離を企てた。

その結果、クエルセチン、ミリセチン及びミリセチン-3-ガラクトシドを結晶状に単離し、その構造を明らかにした。

クエルセチンは種子抽出液を濃縮した際、直接沈殿となり、ミリセチンは、抽出液をアンバーライト IR120 に通し、通過液を濃縮して得た粗色素に、n-ブタノール: 酢酸: 水 = 4:1:2 を加え、一晩放置した不溶部から得られた。これら二つは UV, IR, NMR, アセチル化物融点により同定した。

配糖体は、クエルセチンを除いた母液を、アンバーライト CG-50、ポリアミド、調製クロマトグラフィー精製により、黄色針状色素 (11.8 mg, m.p., 196.1~198.0 °C) として得られた。これを塩酸加水分解して、糖はガラクトース、アグリコンはミリセチンであることを、ペーパークロマトグラフィー及びアグリコンの IR の一致により確かめた。更に H_2O_2 分解反応と部分加水分解によ

り、ミリセチノ-3-ガラクトシドと決定した。

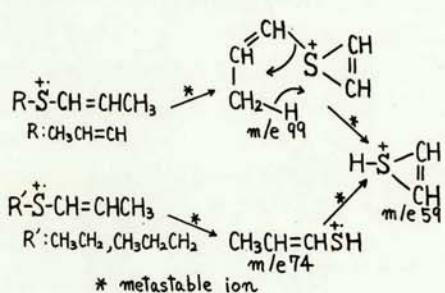
7. 含硫化合物のマススペクトルに関する研究(第2報)

食品香味成分のマススペクトル

北大農化 ○西村 弘行、小池 説夫
水谷 純也

目的: Allium 属食品(タマネギ、ニンニク等)の主要な香味成分は、含硫化合物であることが一般に知られている。演者らは、先に、これら食品香味の前駆体である含硫アミノ酸類のマススペクトルについて報告したが、[Tetrahedron, 28, 4503 (1972)]、今回、開裂機構についてほとんど報告がなく、又食品香味として重要と思われる l-propenyl 基を持つ mercaptans, sulfides, disulfides 類を中心に、さらにタマネギ催涙性物質(thiopropanal S-oxide)についてのマススペクトルを報告する。

方法及び結果: l-Propenyl 基を持つ mercaptans, sulfides, disulfides さらに thiopropanal S-oxide は、すべて合成し、GC-MS, IR, NMR により確認した。一般に allyl 化合物と l-propenyl 化合物とのフラグメンテーションには、大きな差違が認められたが、cis と trans-l-propenyl 化合物の間に顕著な違いはなかった。さらに、そのスペクトルの詳細な検討により、興味あるフラグメンテーションを明らかにした。



8. ウィスキー原酒の芳香成分

アルデヒド類の検討(第一報)

ニッカウヰスキー 竹鶴 威、辻 謙次
○武田 光雄

目的: 従来、アルデヒド類はウィスキー原酒の重要な芳香成分の一つと考えられている。今回、いかなるアルデヒド類が関与しているかにつき検討した。

方法: ウィスキー原酒のアルコール濃度を30%に調製し、2,4-Dinitrophenylhydrazine-H₂SO₄試薬を加え、アルデヒド類を 2,4-Dinitrophenylhydrazone 誘導体とし、分離、TLC, PC, UV, IR により同定を行なった。又、ウイスキー原酒のクロロホルム、エーテル分画抽出

によりアルデヒド区分を得、GC により芳香族アルデヒド(Vanillin, Syringaldehyde) の定量を行なった。

結果: 脂肪族アルデヒド類として、Iso-valeraldehyde, Iso-butylaldehyde, Acetoaldehyde、芳香族アルデヒド類として、Benzaldehyde, Vanillin が同定され、Frufural, Syringaldehyde の存在が推定された。又、GC により定量した Vanillin, Syringaldehyde は原酒 1 (アルコール濃度60%) 当り、それぞれ 0.39 mg, 0.09 mg と推定された。

9. Sporobolomyces odorus の生産する香気成分に関する研究(II) γ -Decalactone の生成量について

北大農化 ○田原 哲士、藤原 一也
水谷 純也

表題酵母は培地中に果実様の芳香を生産する。我々はさきに、グルコース、アスパラギン及び無機塩よりなる合成培地中に蓄積される揮発性成分の主要なものを GLC, MS, IR 等により同定し、なかでも微生物の *de novo* 合成産物としては興味ある二種の脂肪族 γ -ラクトンの存在を明らかにした。ひとつは 4-hydroxydecanoic acid の γ -lactone (γ -decalactone) と同定し、他方は 4-hydroxy-6-dodecanoic acid の γ -lactone であることがその後明らかにされた。

今回は各種の培地(C源、N源別)で本酵母を培養(25°C, 8日間振盪)し、生成する γ -decalactone の定量を行なった。定量はプラスコ3個、培養液450 mlの増殖、香気、pH をチェックした後、遠沈上澄を精製エーテルで3回抽出(抽出液360 ml)、2%炭酸ソーダ50 mlで洗浄、脱水し2 mlに濃縮、 γ -decalactone 10 mg/100 ml エーテル溶液を標準として GLC のピーク面積を比較した。32種の培地につき定量した結果、グルコース・アスパラギン培地 380~450 γ /l、最も多く生成したマンニトール・ポリペプトン培地で 4,490 γ /l であった。定量に当っては市販品による検量線の作成、培地からの γ -decalactone の回収率、エーテル濃縮部、水及び培養液(未接種)のエーテル抽出成分の検討も併せて行なった。

10. 鮎科魚類の筋肉アルドラーーゼの性質の比較

北大・水産 柴田 猛

目的: 北洋産鮎の解糖酵素について、種属による相違、また同じ魚種でも淡水産か海洋産か、あるいは魚の回游状態の変化などによる環境による性質の変化を研究するのを目的とする。ここでは、数種の鮎類の筋肉アルドラーーゼの結晶法と、その精製酵素の物理的および触媒的性質の比較を述べる。

方法：結晶酵素の調製には、0.3Mマンニット溶液(10mMトリエタノールアミン、3mMEDTA、1mMシスティアミンを含む)で抽出し、50~60%飽和硫安区分を集め、硫安で二回再結後、0.01Mトリス緩衝液で平衡化したCM-Sephadex(C-50)カラムを通し、基質を含む0.05M同緩衝液で溶出し、硫安で結晶化し、0.3Mマンニット溶液中で保存する。

結果：各種の筋肉酵素は超遠心的、および電気泳動的に単一のピークとして得られ、ヒメマスの場合、7.75Sの沈降恒数となった。分子量は薄層ゲル濾過法で、いずれも同じ158,000となった。比活性度、紫外線吸収曲線、至適pH、Michaelis恒数および最大速度、熱およびpH安定性、SH基の数とその存在状態などを比較した。哺乳類アルドラーゼに比して、魚の場合安定性が劣る。また魚種間でも、酵素の安定性に相違がみられたが、淡水産と海洋産の生息条件による差はこれまでみられなかつた。

11. 牛乳の酵素処理に関する研究

1. Lactase処理について

帯広畜産大 祐川金次郎

目的：牛乳中には約4.3%の乳糖が含まれているが、牛乳、乳製品の摂取によって、Lactase欠損症に由来する下痢症状を呈する特異体质者の存在は古くから知られ、その数もかなり多いと考えられている。乳糖不耐症には、先天性と二次性の存在が認められ、乳児では自然のままの乳汁を利用できないために栄養障害をおこしたりする。

以上のことから、乳糖不耐症者に対する牛乳、乳製品の利用を考慮して、牛乳のLactase処理の基礎的な方法および処理乳の若干の性質について検討した。

方法：

1) Lactase：*Saccharomyces lactis*から分離した β -D-galactoside galactohydrolaseで、その酵素単位は3.9万ONPG単位/gである。

2) グルコースの定量法：Lactase処理乳のグルコースの定量はFarb-Testを応用した。

3) 蛋白分解度の測定：ROWLAND法およびFOLIN法を用いた。

結果：

1) Lactase 1mg/ml牛乳、37°C、30分間反応で牛乳中の乳糖は完全に分解される。

2) 処理乳の風味は、若干甘味度が増し、塩味、しぶ味が消失する。

3) Lactase処理による牛乳中の蛋白変性、分解は認められない。

12. α -ガラクトシダーゼに関する研究

細菌 α -ガラクトシダーゼの精製とその性質について

帯広農大 ○佐藤 哲也、菅原 四郎

目的：本研究室で分離した細菌(*Aerobacter sp.*)の生産する α -ガラクトシダーゼはこれまでの研究結果、極めて不安定であり、かつ280m μ の吸収が非常に少ないなど他の酵素源のそれと比較して非常に異なった性質を有していることが判明した。本研究ではこの酵素を精製し、他の酵素との性質の比較検討することを目的とする。

方法および結果：蛋白質の定量はLowry法、280m μ およびこの蛋白質が極大吸収を示す211m μ の吸収測定によって行なった。培養により得た菌体を超音波処理、超遠心分離によって得た上澄液をDEAE-cellulose、Sephadex G 200およびSephadex G 200ゲル濾過により精製した。この結果クロマト的に単一なものが得られた。しかし、以前にも報告したごとく、この酵素は非常に不安定な性質を有しており活性の収量も極めて低い(DEAE-cellulose: 3.5%, Sephadex G 200: 2.6%, Sephadex G 200: 0.36%)。比活性はSephadex G 200ゲル濾過の段階で40倍となったが、その後のSephadex G 200ゲル濾過を行なうことにより、その約2/3(21倍)に低下した。しかしこの活性区分はDTT(10⁻³M)で前処理することにより約2倍に活性化される。粗酵素を用いた実験でも、酵素の稀釈による活性の急激な減少が認められたことから、活性の損失は稀釈による不活性化がその原因の一と考えられる。

13. 玄米からのセラミドの分離

帯広畜産大 ○近藤 泰男、伊藤 精亮
藤野 安彦

目的：われわれは前回、玄米中のスフィンゴ脂質としてセレブロシド(セラミドモノヘキソシド)の存在を報告した。今回は、その前駆体であるセラミド(N-アシルスフィンゴシン)を単離して、その化学的構成をしらべることを目的とした。

方法：玄米(北海道産米)を粉碎機でくだき、これをクロロホルム-メタノール(2:1)で抽出して全脂質を得た。これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供し、セラミドを含有する脂質画分を弱アルカリで処理して、セラミドを分離精製した。この純度は、ケイ酸薄層クロマトグラフィーと赤外線吸収スペクトルによって確かめた。加水分解により得られた構成スフィンゴシンおよび構成脂肪酸は、ケイ酸薄層クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーで分析した。

結果：精製されたアルカリ安定脂質の薄層クロマトグラムおよび赤外線スペクトルは、標準セラミドのそれとよく一致した。玄米セラミドを構成する長鎖塩基としては、フィトスフィンゴシン、デヒドロフィトスフィンゴシン、ジヒドロスフィンゴシンなどが主であった。構成脂肪酸の大部分は長鎖のオキシ脂肪酸であった。

14. デンマーク産カマンベールチーズより分離された *Pen. camemberti* spp. の菌体脂質構成脂肪酸と 赤色螢光性物質について

帶畜大農化 後藤 健三

この菌株は、ツバベック合成培地に培養される時、培地が赤色を帯び pH が塩基性に変化する。演者はツバベック培地に30°C, 3週間静置培養後、生育菌体をFOLCH法で抽出水洗し、暗赤色の全脂質試料を得た。GLC分析の結果、脂質構成脂肪酸は未同定を含めると16種認められ、 $C_{18:1}$, $C_{16:0}$, $C_{18:2}$, $C_{18:0}$ が主要なものであった。TLCによる脂質成分組成分析では、石油エーテル-エーテル-酢酸(90:10:1)展開後ヨード発色検出で8成分の存在が見られたが、含量は遊離脂肪酸が最も高く、ジグリセリド、トリグリセリド、モノグリセリドがこれに次いでいた。紫外線照射(波長366 nm)で青緑色の螢光成分3種と赤色螢光成分2種が認められた。この青緑色螢光成分中特に強い螢光を発する成分は、エルゴステロールと仮同定されたが、赤色螢光成分はアセトンで展開すると青緑色螢光成分と分離し、中性脂質とは分離しない。次にベンゼン-メチルエチルケトン-ギ酸(75:24:1)とエタノールによって、ケイ酸カラムクロマトで分離溶出すると3成分に分離され、更にこの中の主な螢光成分は、シクロヘキサン-ベンゼン-酢酸エチル(4:1:1)によるTLCで、2-アミノアントラキノンに類似するが、Rf値の異なる3成分に分離された。

15. フランス産ブルーチーズより分離された *Pen.*

roqueforti spp. の菌体脂質成分について

帶畜大 後藤 健三、根岸 孝

ブルーチーズ(Bleu de Bresse)の熟成に関与するこの糸状菌をツバベック合成培地に30°C, 2週間静置培養後、得られた菌体の脂質をFOLCH法で抽出水洗して全脂質試料とした。全脂質構成脂肪酸のGLC分析では、 $C_{18:1}$, $C_{18:0}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$ が主要脂肪酸で他に $C_{18:2}$, $C_{20:2}$, $C_{18:3}$ および未同定の微量のものを含めると18種知られた。TLCによる脂質組成分析からは、石油エーテル-エーテル-酢酸(90:10:1)で展開すると9成分の分離が認められ、この中7成分は紫外線(波長366 nm)照射で青緑色の螢光を有し、最強度の螢光を示す成分はエルゴ

ステロールに仮同定された。前記9成分中最大含有量を占めるのは、遊離脂肪酸でジグリセリド、トリグリセリドがこれに次いでいた。極性脂質は、微量含有されるが、展開溶媒CHCl₃-CH₃OH-水-28%NH₄OH(130:70:8:0.5)とCHCl₃-アセトント-CH₃OH-酢酸-水(100:40:20:20:10)によるTLCで少なくともリン脂質2成分の存在が推定された。

16. *Aspergillus oryzae* の脂質について

帶畜大農化 ○大西 正男、中野 益男

藤野 安彦

目的：細菌や酵母の脂質については既に多くの研究がなされているが、糸状菌の脂質については、まだ十分には調べられていない。われわれは、わが国で広く使用されている *Aspergillus oryzae* (黄こうじかび) から脂質を分離し、その化学的性状を系統的に調べようとした。

方法：*Asp. oryzae* の菌体を水で洗い、凍結乾燥の後、クロロホルム-メタノール(2:1)で抽出して全脂質を得た。これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して中性脂質、糖脂質およびリン脂質に分画した。各画分を薄層クロマトグラフィーに供して脂質の内容を調べ、また脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーで分析した。

結果：全脂質のうち中性脂質、糖脂質およびリン脂質の割合は、86.5:11.3:2.3であった。中性脂質としてはトリグリセリドと遊離脂肪酸が過半を占め、糖脂質としてはセレブロンド、リン脂質としてはレンチンとケファリンが多く含まれていた。構成脂肪酸としては全脂質の場合、リノール酸が最も多く次いでパルミチン酸、オレイン酸などであった。極性脂質ではオキシ脂肪酸も含まれていた。

17. アミノ酸・糖縮合生成物の微生物に及ぼす影響について

北大農化 ○三浦 友三、田原 哲士

水谷 純也

酵母 *Sporobolomyces odoratus* の培地(グルコース、アスパラギン及び無機塩)を高圧滅菌する際に、滅菌時間を長くして培地の着色度が強くなったものに接種すると、短時間滅菌のものより酵母の増殖が良かった。本実験はこの培地の成分変化を調べる目的で行った。

培地を高圧滅菌すると培地内で Maillard 反応などの諸反応がおこり、その反応生成物が微生物の増殖を短時間の培養では促進すると思われる。このような現象は今まで多く観察され究明が試みられており、滅菌による培地の着色度と微生物の増殖との間には必ずしも相関関

係がないとされ、この実験の結果も同様の傾向がみられた。そこで高圧滅菌の際に生成すると思われる窒素化合物、特に Maillard 反応の中間体である糖とアミノ酸の縮合した物質に注目し、この種の化合物が微生物の増殖に効果を与えるかどうかを明らかにするために、N-substituted 1-amino-1-deoxy-D-fructose 及び N-substituted 2-amino-2-deoxy-D-glucose を常法により合成した。アミノ酸として Gly, L-Ala, L-Val, L-Leu, L-Asn, L-Gln, L-Asp, L-Lys, L-Phe, L-Trp, L-Thr, L-Cys, 2-methyl-DL-methionineなどを用いた。これらの化合物の諸性質並びに無菌濾過により培地に添加した場合の微生物に及ぼす影響についても述べる。

18. 北海道内醤油諸味酵母に関する研究 (16)

Torulopsis versatilis の sucrose および maltose の同化性

北大応菌 吉田 忠

北海道内醤油諸味から分離した *Torulopsis versa-*

tilis は、glucose を同化するが fructose を同化できないという特異な酵母であるが、オランダの C. B. S. から得た同種標準株を用いた実験により、この fructose 非同化性株が変異によって得られ、食塩がこれに影響することが推察された。

分離酵母にはさらに sucrose および maltose の失われやすい傾向も認められ、同じく標準株を用い、UV 照射および食塩による馴養を行なってこの原因を検討した結果、sucrose 同化能は、fructose の場合と同様に変異によって失われ易く、この変異が食塩によって促進されることが観察された。しかし、maltose の同化能については UV 照射によって失われる傾向は認められたが、高濃度の食塩による馴養のみによって喪失株は得られず、fructose や sucrose の場合とは同化能の失い方が異なるように思われた。

北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(A, B, C順)

旭 油 脂 株 式 会 社
福 山 酿 造 株 式 会 社
古 谷 製 莜 株 式 会 社
合 同 酒 精 株 式 会 社
北 海 道 朝 日 麦 酒 株 式 会 社
北 海 道 日 产 株 式 会 社
北 海 道 糖 業 株 式 会 社
北 海 道 和 光 純 菓 株 式 会 社
北 海 三 共 株 式 会 社
北 海 製 缶 株 式 会 社 缶 詰 研究 所
関 東 化 学 販 売 株 式 会 社
日 本 化 学 飼 料 株 式 会 社

日本理化器械株式会社
日本新薬株式会社 札幌工場
日本甜菜製糖株式会社 技術部
ニッカウヰスキー株式会社
サッポロビール株式会社 札幌工場
札幌酒精工業株式会社
宝酒造株式会社
高砂香料株式会社
東洋化学産業株式会社 札幌出張所
雪印乳業株式会社
雪印アンデス食品株式会社